免疫佐剂分类及作用机理

Classification and mechanism of immune adjuvant

杨琳，傅哲彦，吕正兵，舒建洪*

浙江理工大学生命科学学院，浙江 杭州，310018

摘要：通过现代生物技术制成的DNA疫苗、重组疫苗和亚单位疫苗等新型疫苗，虽然安全性较传统疫苗有所提高，但其免疫原性不及传统疫苗，需要通过佐剂增强疫苗的免疫效力。随着对佐剂研究的不断深入，铝佐剂、油乳佐剂、微生物类佐剂、蜂胶佐剂、左旋咪唑佐剂、脂质体佐剂、中药佐剂及小肽类佐剂等相继问世，其作用机理也随研究的不断深入逐渐清晰。通过动物免疫实验结果发现，小肽类免疫佐剂不仅可以增强特异性免疫反应，具备免疫增强剂的功效，而且获取简单，便于运输保存，安全性高，可能是未来佐剂研究的一个主要方向。

关键词：疫苗，免疫佐剂，作用机理

Abstract: Although new vaccines such as DNA vaccines, recombinant vaccines, and subunit vaccines obtained through modern biotechnology have been improved in safety compared to conventional vaccines, they also have certain defects. One of the biggest defects is that the immunogenicity is often low, and the efficacy of the immune body cannot be achieved. It is necessary to add an adjuvant or a carrier to improve the immune efficacy. Therefore, it is very important to develop an effective, safe and effective adjuvant to enhance the specific immune response. With the continuous development of adjuvants, aluminum adjuvant, oil emulsion adjuvant, microbial adjuvant, propolis adjuvant, levamisole adjuvant, liposome adjuvant, traditional Chinese medicine adjuvant and peptide adjuvant have been used as immunoadjuvants and its mechanism of action has also been studied more and more thoroughly. Through animal immunization experiments, it was found that peptide immunoadjuvant not only enhances specific immune response, but also has the effect of immune enhancer, and is easy to obtain, easy to transport and preserve, and has high safety, which may be a major direction of future adjuvant research.

Key Words: Vaccine; immune adjuvant; mechanism of action

接种疫苗是预防和治疗传染病的最具成本效益的方法，疫苗有效的免疫原性和安全性是该领域最重要的关注点。虽然传统疫苗，即经人工减毒、脱毒、灭活等方法制成的疫苗，通

通讯作者：舒建洪. 电子邮箱：shujianhong@zstu.edu.cn

常具有更高的免疫原性，但这些疫苗不稳定且存在有限的回复毒力的潜在风险。与传统的疫苗相比，DNA 疫苗、重组疫苗以及亚单位疫苗等新型疫苗相对安全。但是，这些疫苗也存在一定的缺陷，最大的缺陷之一就是免疫原性往往较低，不能达到很好的免疫保护效果，需要加入佐剂或者递送载体来提高其免疫效力。因此开发具有高效、安全、有效的佐剂，以加强特异性免疫应答就非常重要[1]。随着对佐剂研究的不断深入，目前免疫佐剂的范畴正在不断扩大。

免疫佐剂（immunologic adjuvant）是指一类能非特异性地增强或改变机体对匹配抗原的特异性免疫应答，可以增强抗原的免疫原性或者改变免疫的反应类型,但其本身并无抗原性的一类物质[2]，是一种非特异性的免疫增强剂。免疫佐剂可以广泛地结合多种疫苗使用，它具备很多的优点，如使抗原的使用量降低，使免疫系统迅速被激活，使免疫应答增强，使抗原连续释放的时间延长等等[3，4，5]，从而对于提升疫苗对机体的免疫效果具有非常重要的价值。

一、疫苗佐剂的分类

随着科研工作者不断深入的对免疫佐剂进行研究,新型免疫佐剂不断被发现,常见的免疫佐剂大致可以分为以下几类：

1.铝佐剂：1926 年，铝佐剂的佐剂活性被证实，广泛使用至今，已有九十多年。铝佐剂是一种乳白色的冻胶状半固体，目前常见的铝佐剂有氢氧化铝凝胶，磷酸铝、硫酸铝、铵明矾及钾明矾等等，但常用的是 $Al(OH)_3$ 佐剂[6]。$Al(OH)_3$ 的应用非常广泛，是目前唯一被 IDA 批准的可应用于人类和兽类的免疫佐剂[7]。该佐剂具有抗原吸附的作用，能够从溶液中将蛋白质抗原吸附，最终形成抗原沉淀。当将其注射到机体内后就可以缓慢将抗原释放出，从而大大延长了抗原作用的时间[8][9]。同时还能促进注射部位巨噬细胞的应答[10][11]。但铝佐剂也存在其不足之处，与其他应用的佐剂相比较产生较弱的免疫应答，且不能参与细胞免疫

应答[12]；有研究揭示铝佐剂在白鼠体内可进入大脑，存在风险。诱导产生的免疫反应类型有偏向性（Th2 型）、局部反应重等。

2.油乳佐剂：1936 年，油乳佐剂被成功开发，弗氏完全佐剂研发问世。油乳佐剂最主要的成分是油料。根据所用油料的区别进行分类，可将油乳佐剂分成矿物油和非矿物油佐剂这两种。这类免疫佐剂可以促进多种抗原产生高效价的抗体，使抗原连续刺激的时间相对延长，抗原接种的剂量减少，抗原接种的次数降低[13]，因为这些优点，油乳佐剂在动物疫苗中得到了广泛的应用。但是这种佐剂在生物机体内起作用的同时也会伴随着一些安全隐患的问题，如造成组织损伤、应激反应、矿物油的残留[14]，可能致癌等[15]。油乳的主要作用机制可以解释为：其一，特异性抗原被油包裹，从而可以缓慢释放，并且被油包裹住的抗原还可以避免被酶解，进而可以不间断的使机体产生高效的特异性免疫应答；其二，油可以刺激机体局部产生炎症反应，有助于刺激免疫细胞使其增殖，从而提高机体的免疫应答水平[16]。目前市场上常见的油乳佐剂主要有弗氏佐剂、白油 Span 佐剂、MF-59[17]、ISA 206、ISA 720[18]、佐剂-65、SAF 等等，其中兽用疫苗多用油包水型佐剂，人用疫苗多用水包油佐剂。油佐剂在与疫苗配合使用时都要经过乳化这一过程，常见的乳化设备有立体胶体磨、高压匀浆泵、罐内剪切机以及乳化罐等。不同的油佐剂有不同的乳化工艺。以 ISA 206 乳化工艺为例，佐剂与抗原配比为质量比 1：1，滴加时将油相和水相温度调整合适，抗原滴加速度为 160 万 mL/h,滴加时搅拌速度为 80 转/min。乳化过程中均质压力调整合适的低压、高压。一般均质后温度为 29℃，分装前降温至 15℃。

3.微生物来源的佐剂：微生物作为佐剂能够增强机体免疫应答很早之前就有报道。20 世纪 50 年代，革兰氏阴性菌的脂多糖被证实具有免疫佐剂的功效。随着对微生物类佐剂研究的不断深入，越来越多的微生物被证实具有佐剂功效，目前已被发现具有佐剂功效的微生物类佐剂大致有：分枝杆菌及某些百日咳杆菌、绿脓杆菌、布氏杆菌、大肠杆菌、魏氏梭菌

的脂多糖、结核杆菌素等；革兰氏阳性菌有葡萄球菌、短小棒状杆菌、链球菌、乳杆菌等[19]。实验表明，当这些微生物或其产物与免疫疫苗同时注入时，具有明显增强机体特异性免疫应答的功效[20]。但是细菌成分一般都具有毒性，所以这也是微生物类佐剂难以成为人用疫苗佐剂的重要原因之一。是微生物来源的物质或成分作为佐剂，此段内容不够准确和具体

4.蜂胶佐剂：20 世纪 60 年代，前苏联科学家对蜂胶的佐剂活性进行研究，证实了蜂胶具备免疫佐剂活性。蜂胶是蜜蜂首先在植物芽孢或树干上采集树脂，然后将采集好的树脂经过一系列的处理后所形成的一类具有芳香气味的胶状固体物。蜂胶的成分极其复杂，代表性的成分有黄酮类化合物、多种氨基酸、芳香挥发油、维生素[21][22]以及多种微量元素等等。蜂胶其本身并不会加强机体的免疫应答，然而当其与疫苗同时使用时就可以发挥佐剂的功效[23]，增强机体的免疫应答，是一类天然的免疫增效剂，而且其还具备抑菌的功效[24]。与传统佐剂相比，如油乳佐剂，蜂胶佐剂具有更高的安全性[25]。

5.左旋咪唑佐剂：1971 年，Renoux 等人发现左旋咪唑与免疫疫苗配合使用可以增强免疫效果。自此，人们对左旋咪唑佐剂活性的研究开始。左旋咪唑是经消旋四咪唑和 d-樟脑-10-磺酸环合后然后经过将其水解成盐而得到的咪唑衍生物。在兽医临床上被广泛应用于抗虫，主要的作用对象是蛔虫和钩虫。研究表明左旋咪唑有免疫佐剂的功效，可以配合免疫疫苗使用从而提高机体的免疫应答效力。其可以诱导 T 细胞分化，使 T 细胞转化成致敏的 T 细胞，接而产生 MHF 和 MIF 等淋巴因子，最终进一步活化巨噬细胞。当外周免疫细胞、T 细胞、巨噬细胞和中性细胞的功能受到损伤时，左旋咪唑可恢复受损功能。左旋咪唑一般来讲副作用比较小，但是长期使用会引起腹泻以及肝损伤等。

6.脂质体佐剂：1974 年，Allison 等人首次报道脂质体具有免疫增强剂的功效[26]。脂质体经卵磷脂和神经酰胺等制得，特点是具有双分子层结构，研究表明，磷脂的酰基链越长、饱和度越高，其增强机体的免疫应答效果越明显[27]。它作为佐剂的同时还具备载体的功能，

与细胞膜的微球体相类似[28]。脂质体作为佐剂具备许多优点，其一，脂质体的安全性非常高，因为它是由一类类细胞膜材料构成的，所以脂质体完全可以被生物降解，没有残留。其二，磷脂的结构同时包含亲水性基团与亲脂性基团。那么无论是亲水性抗原还是亲脂性抗原都可以被其包封，所以脂质体具有广泛的应用性。其三，被脂质体包封的抗原可以避免被降解，从而可以缓慢连续释放抗原，持续刺激机体产生特异性免疫应答。其四，脂质体可以冻干保存。虽然脂质体具有如此多的优点，其缺点也不容忽视，主要表现在以下两个方面：1）虽然脂质体安全性很高，但它也存在部分轻微的副反应；2） 脂质体对抗原的包封率不是很均一，其对有些抗原的包封结果不理想，所以就很难发挥疫苗的免疫作用。

7.中药佐剂：1984 年，QuilA 被报道具有免疫增强剂的效果。QuilA 是从南美皂树的树皮中提取的一类皂苷。但是其具有很大的副作用，具有很强的毒性，不仅能引起肉芽肿，还会引起溶血现象。随着研究的深入，越来越多的中药成分被应用于疫苗中充当佐剂，常见的用作于佐剂的中药成分有皂苷类、中药中的多糖成分[29]和中药复方。1）皂苷是一种甾体或三萜配糖类物质，它广泛地存在于陆地高等植物中，也有为数不多的存在于低等海洋动物与一些细菌之中。许多皂苷类成分可以充当佐剂，有些皂苷还有抑菌作用，且安全性较高[30]。2）中药多糖[31]成分同样可以充作良好的佐剂，多糖是至少 10 个单糖经过糖苷键连接形成的糖链，常见的含有多糖成分的中药材有天麻、甘草、黄芪[32]、冬虫夏草和灵芝等等[33]。这类多糖成分副作用极低，无细胞毒性[34]，不会抑制骨髓造血细胞的繁殖，也不会使机体抗感染能力下降[35，36]。3）中药复方也有充当佐剂的潜力，有实验表明玉屏风散、四君子汤 、金鸡散、黄连解毒汤等复方中药与免疫疫苗同时使用时，明显提升了动物血清中的抗体效价 ,这表明中药复方可以增强机体免疫效果，作为疫苗佐剂有一定的发展潜力。

8.小肽类佐剂：小肽类佐剂是近几年来发现的可以增强免疫效力，具备佐剂功效的一类物质。它是由菌分泌在上清中，通过截留可以获得的<10kD 的肽段。通过动物免疫实验发

现，小肽明显提升了机体产生抗体的效价，具备佐剂功效。小肽作为佐剂具备很多优势：获取简单；便于储存与运输；因为是益生菌所分泌，所以对机体无害，安全性高，有望作为人用疫苗佐剂。

二、作用机理

这些佐剂根据其作用机理，可以归纳为以下类型：

1. 抗原存储库效应

在机体局部注射抗原后，佐剂将过多的抗原募集并储存，并缓慢连续释放[37]，通过这种方式使抗原连续刺激时间延长，从而提高抗体效价[38]，提高机体免疫应答效果，如脂质体佐剂等。

2．使细胞因子和趋化因子表达上调，于注射位点募集免疫细胞[39]

细胞因子是指由机体细胞经刺激而合成、分泌的一类小分子蛋白质。它具有广泛生物活性，很低的水平就可以表现出生物学活性，是细胞间信号传递分子，其通过结合相应的受体调控免疫应答。趋化因子是指能够将白细胞迁移到感染部位的一些低分子量(多为 8-10KD)的蛋白质（如 IL-8、MCP-1 等）[40，41]。在免疫应答中，细胞因子和趋化因子扮演着重要的角色，上调细胞因子和趋化因子表达能够使机体的免疫效应增强，如微生物类佐剂、MF59 等。

3 增加抗原的表面积

一些抗原体积小、相对分子质量低，不足以诱导免疫应答，佐剂通过将其包裹，增大了抗原的相对分子质量以及表面积，从而增强了抗原的免疫原性，如油乳佐剂等。

4.载体作用

一些佐剂可以充当载体的作用，将抗原包裹，避免抗原被酶降解，从而可以连续释放抗原，增加抗体效价，如铝佐剂等。

5.促进树突状细胞的活化与成熟，使抗原提呈增强

树突状细胞（Dendritic cells, DC）是机体功能最强的专职抗原递呈细胞(Antigen presenting cells, APC)，它可以有效地摄取、加工处理和递呈抗原。某些佐剂可以促使树突状细胞活化成熟[42，43]，从而使抗原提呈加强，增强机体的免疫应答，如油乳佐剂等

6.激活炎性小体[44]

炎性小体（inflammasome），又称炎症小体，是由多种蛋白质组成的复合体,是天然免疫系统的重要组成部分，分子量约 700 kDa[45]。炎性小体能够调节胱冬肽酶-1（caspase-1）的活化进而在天然免疫防御的过程中促进细胞因子前体 pro-IL-1β和 pro-IL-18 的切割成熟[46]。炎性小体还能调节 caspase-1 依赖的形式编程性细胞死亡，诱导细胞在炎性和应激的病理条件下死亡[47]，如铝佐剂等。

三、展望

理想的佐剂是以最小的免疫剂量刺激机体但是可达到增强免疫应答的作用，并且安全性高，没有副作用。随着对免疫佐剂研究的不断深入，今后免疫佐剂研究的方向不仅需要进一步研究免疫佐剂作用机理，从而尽可能详细地掌握作用机理；而且要不断探索寻找更加高效低毒的可以增强免疫应答的新型免疫佐剂。小肽类佐剂是近几年来发现的可以增强机体免疫应答的一类物质。实验室通过动物实验发现一组来自解淀粉芽孢杆菌分泌的小肽明显增强机体产生的抗体效价，且因为是益生菌所分泌，所以对机体无副作用，且便于运输，保存方便，因此，小肽类佐剂的研究可能是将来佐剂研究的一个重要的方向。

REFERENCES

[1] DowlingJK,MansellA.Toll-likereceptors:the swiss army knifeof immunity and vaccine development[J].ClinTransl Immunology,2016,5(5):85-86.

[2] 臧力铭,胡松华. 疫苗免疫佐剂及其研究进展[J] .黑龙江畜牧 兽医, 2004, 3: 61-62.
Yan L M, Hu S H. Vaccine immune adjuvant and its research progress [J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary, 2004, 3: 61-62.

[] SHAKYA A K，CHOWDHURY M Y，TAO W，et al． Mucosal vaccine delivery：current state and a pediatric perspective［J］.J Control Release，2016，240（10）：394-413．

[3] Bergmann-Leitner ES,Leitner WW.Adjuvants in the driver's seat:how magnitude,type,fine specificity and longevity of immune responses are driven by distinct classes of immune potentiators[J]. Vaccines(Basel), 2014,2(2):252-296.
[4] SCHULZE K，EBENSEN T，BABIUK L A，et al．Intranasal vaccination with an adjuvanted polyphosphazenes nanoparticlebased vaccine formulation stimulates protective immune responses in mice［J］. Nanomedicine，2017，13（7）: 2169-2178．
[5] 吴宣，杨泽林，岳华，等.免疫佐剂的研究进展［J］.养禽与禽病防治，2003（9）: 2-4.
Wu X, Yang Z L, Yue H, et al. Research progress of immunological adjuvants [J]. Prevention and Control of Poultry and Poultry Diseases, 2003 (9): 2-4.
[6] HeydenreichB,BellinghausenI,LundL,etal.Adjuvant effects of aluminium hydroxide-adsorbed allergens and allergoids-differences in vivo and in vitro[J]. Clin Exp Immunol,2014,176(3):310-319.
[7] MIKI H,NAKAHASHI-ODA C, SUMIDA T, et al.Involvement of CD300a phosphatidylserine immunoreceptor in aluminum salt adjuvantInduced Th2 responses［J］. J Immunol，2015，194(11):5069 -5076.
[8] AIKAWA K, MA TSUMOTO K, UDA H ,et al. Prolonged release of drug from O/W emulsion and residence in rat nasal cavity[J] . Pharm Dev Technol, 1998, 3(4): 461-469.
[9] Eisenbarth SC, ColegioOR, O'ConnorW, et al. Calcial role for the Nalp3 inflammasomeintheimmunostimulatory properties of aluminum adjuvant [J]. Nature, 2008, 453 (7198): 1122-1126.
[10] LJUTIC B， OCHS M， MESSHAM B， et al． Formulation， stability and immunogenicity of a trivalent pneumococcal proteinvaccine formulated with aluminumsalt adjuvants ［J］． Vaccine， 2012， 30(19):2981-2988．
[11] Li H, Willingham SB, Ting JP, et al. Cutting edge: inflammasome activation by alum and alum's adjuvant effectaremediatedbyNLRP3[J].JImmunol,2008,181(1): 17-21.
[12] Qing He,Alaina Mitchell,Tulin Morcol,et al.Calcium phos phate nanoparticles induce mucosal immunity and protection against herpes simplex virus type 2［J］.Clin Diag Lab Immun, 2002，9（5）：1021-1024.
[13] BAKER J A，LEWIS E L，BYLAND L M，et al． Mucosal vaccination promotes clearance of Streptococcus agalactiae vaginal colonization［J］． Vaccine，2017，35（9）：1273-1280．
[14] 何海蓉，姜平，梅忠. 不同来源白油佐剂质量分析及其制备的禽流感疫苗安全性与免疫效力研究［J］. 中国家禽，2009，31（22）: 15-18.
He H R,Jiang P,Mei Z. Quality analysis of different sources of white oil adjuvant and its safety and immune efficacy of avian influenza vaccine prepared[J].China Avian,2009,31(22):15-18.
[15] LIU K F ,LIU X R ,LI G L ,et al．Oral administration of Lactococcus lactis-expressing heat shock protein 65 and tandemly repeated IA2P2 prevents type 1 diabetes in NOD mice［J］.Immunol Lett，2016，174（1）: 28-36．
[16] ZHANG X，HU S，DU X，et al． Heterologous expression of carcinoembryonic antigen in Lactococcus lactis via LcsB-mediated surface displaying system for oral vaccine development ［J］． J Microbiol Immunol Infect． 2016，49（6）：851-858．
[17] LOFANO G， MANCINI F， SALVATO R E G，et al．Oilin-emulsion MF59 increases germinal center B cell differentiation and persistence in response to vaccination［J］． J Immunol,2015,195(4):1617 －1627.
[18] XUE X， DING F， ZHANG Q， et al． Stability and potency of the Plasmodium falciparum MSP119/AMA1(III) chimeric vaccine candidate with Montanide ISA720 adjuvant ［J］.Vaccine,2010,28(18):3152-3158．
[19] MOSCHOS S A, BRAMWELL V W , SOMAVA RAPU S, et al. Comparative immunomodulatory properties

of a chitosanMDP adjuvant combination following intranasal or intramuscular immunization[J] . Vaccine, 2005, 23(16): 1923-1930.

[20] Ly NP, Litonjua A, Gold DR, et al. Gut microbiota, probiotics, and vitamin D: interrelated exposures influencingallergy,asthma,andobesity[J].JAllergyClin Immunol,2011,127(5):1087-1094.

[21] Agmon Levin N , Theodor E, SegalRM, et al. Vitamin D in systemic and organ-specific autoimmune diseases[J].Clin Rev Allergy Immunol,2013,45(2): 256-266.

[22] Wegienka G, Havestad S, Zoratti EM, et al. Association between vitamin D levels and allergy-related outcomes vary by race and other factors [J]. J Allergy Clin Immunol, 2015,136(5):1309-1314.

[23]王雪鹏,刘悦竹,陈蕾,等. 鸡痘蜂胶佐剂灭活疫苗的研制[J] . 中国兽医杂志, 2005, 41(4): 52-53.

Wang X P, Liu Y Z, Chen L, et al. Development of inactivated vaccine for chicken pox propolis adjuvant [J] . Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2005, 41(4): 52-53.

[24] Sforcin J M. Propolis and the immune syetem [J]. J Ethnopharm Acol, 2007, 113(1): 1-14.

[25] MOSCHOS S A, BRAMWELL V W , SOMAVA RAPU S, et al. Comparative immunomodulatory properties of a chitosanMDP adjuvant combination following intranasal or intramuscular immunization[J] . Vaccine, 2005, 23(16): 1923-1930.

[26] Allison A C. Liposomes as immunological adjuvants[J] . Nature, 1974, 252: 252254.

[27] 何敏,符华林,李英伦.兽用脂质体制剂的研究进展[J].中国兽药杂志, 2004, 38(9): 3337.

He M, Fu H L, Li Y L. Research Progress in Veterinary Liposomal Preparations[J].Chinese Journal of Veterinary Drug, 2004, 38(9): 3337.

[28] Brewer J M, Tetley L, Richmond J, et al . Lipod vesicle size determines the Th1 or Th2 Response to entrappen antigen [J]. Immunol, 1998, 161(8): 4000-4007.

[29] HIGHTON A J， KOJA R UNCHITT T， GI R A R DIN A， et al． Chitosan hydrogel vaccine generates protective CD8 T cell memory against mouse melanoma［ J］． Immunol Cell Biol， 2015，93(7):634-640.

[30] Li Y, Xie F, Chen J, et al . Increased humoral immune responses of pigs to foot-and-mouth disease vaccine supplemented with ginseng stem and leaf saponins [J]. Chem Biodivers, 2012, 9(10): 2225-2235.

[31] WANG M， YANG R， ZHANG L， et al． Sulfated glucan can improve the immune efficacy of Newcastle disease vaccine in chicken［ J］． Int J Biol Macromol， 2014， 70:193-198.

[32] Guo L, Liu J, Hu Y, et al . Astragalus polysaccharide and sulfated epimedium polysaccharide synergistically resist the immunosuppression [J]. Carbohydr Polym, 2012, 90(2): 1055-1060.

[33]马兴铭，赵进昌．中药多糖对小鼠巨噬细胞功能影响的比较[J]．甘肃中医学院学报，2000，17（4）: 11-12.

Ma X M, Zhao J C. Comparison of effects of traditional Chinese medicine polysaccharide on mouse macrophage function [J]. Journal of Gansu College of Traditional Chinese Medicine, 2000, 17(4): 11-12.

[34] 魏恒 ,李娟娟.中药免疫增强剂在养鸡生产中的应用研究进展[J]. 山西农业科学, 2018 ,46(11):1971-1974.

Wei H, Li J J. Advances in the application of traditional Chinese medicine immunopotentiators in chicken production[J]. Shanxi Agricultural Science, 2018，46（11）: 1971- 1974.

[35] GO R DON D， KELLEY P， HEINZEL S， et al． Immunogenicity and safety of AdvaxTM， a novel polysaccharide adjuvant based on delta inulin， when formulated with hepatitis B surface antigen:A randomized controlled Phase 1 study［J］． Vaccine， 2014， 32:6469-6477．

[36] LIU M， MACHOVA E， NESCAKOVA Z， et al． Vaccination with mannan protects mice against systemic aspergillosis［ J］． Med Mycol， 2012， 50:818-828．

[37] GUPTA R K，CHANG AC，G R IFFIN P，et al． In vivo distribution of radioactivity in mice after injection

of biodegradable polymer microspheres containing 14C-labeles tetanus toxoid ［J］. Vaccine， 1996， 14(15) :1412-1416.

[38] GAO S，LI D，LIU Y，et al． Oral immunization with recombinant hepatitis E virus antigen displayed on the Lactococcus lactis surface enhances ORF2-specific mucosal and systemic immune responses in mice ［J］． Int Immunopharmacol，2015，24（1）：140-145．

[39] MOSCA F，TRITTO E，MUZZI A，et al． Molecular and celluar signatures of human vaccine adjuvants ［J］ . Proc Natl Acad Sci USA，2008，105(30) :10501-10506．

[40] GOTO N，AKAMA K． Histopathological studies of reactions in mice injected with aluminum-adsorbed tetanus toxoid［ J］ ． Microbiol Immunol，1982，26(12) :1121-1132．

[41] CAPRONI E，TRITTO E，CORTESE M，et al． MF59 and Pam3CSK4 boost adaptive responses to influenza subunit vaccine through an IFN type I-independent mechanism of action［ J］． Immunol，2012，188(7) :3088-3098.

[42] 刘轶博，耿兴超，汪巨峰，等.免疫佐剂作用机制研究新进展[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2015,24(20): 2324-06.

LIU Y B,YAN X C,WANG J F, et al． Recent advances in the mechanism of immunoadjuvants[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2015,24(20): 2324-06.

[43] SEUBERT A，MONACI E，PIZZA M，et al． The adjuvants aluminum hydroxide and MF59 induce monocyte and granulocyte chemoattractants and enhance monocyte differentiation toward dendritic cells ［J］ .Immunol，2008，180(8) :5402-5412．

[44] 周洋，耿兴超，汪巨峰，等．疫苗佐剂最新进展［J］. 中国新药杂志，2013，22(1) :34 -42．

Zhou Y, Yan X C, Wang J F, et al. Recent advances in vaccine adjuvants[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2013, 22(1) : 34 -42.

[45] LI H，NOOKALA S，RE F． Aluminum hydroxide adjuvants activate caspase-1 and induce IL-1β and IL-18 release［J］.Immunol，2007，178(8) :5271-5276．

[46] 侯立婷，陈瑾，乔绪稳，等．猪 O 型口蹄疫病毒细菌样颗粒疫苗的制备与免疫原性鉴定［J］. 生物工程学报，2017，33（2）: 217-227．

Hou L T，Chen J，Qiao X W，et al． Design and immunogenicity evaluation for the bacteria-like particle vaccine against swine type O foot-and-mouth disease virus ［J］． Chin J Biotech，2017，33（2）：217-227．（in Chinese）

[47] Qin T, Chen J, Wang D, et al . Optimization of selenylation conditions for Chinese angelica polysaccharide based on immune-enhancing activity [J]. Carbohydr Polym, 2013, 92(1): 645-650.